

KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11)Publication number: 1020010089980 A
(43)Date of publication of application: 17.10.2001

(21)Application number: 1020000018388
(22)Date of filing: 08.04.2000

(71)Applicant: CHEIL JEDANG
CORPORATION
(72)Inventor: HAN, JONG GWON
JANG, JAE YEONG
KWAK, YEONG HYEON
LEE, GWANG HO
LEE, JAE HEUNG
MIN, SEON SIK
OH, YUN SEOK
PARK, JANG HUI
SIM, JAE IK

(51)Int. Cl. C12N 1/20

(54) MICROORGANISM PRODUCING 5-XANTHYLIC ACID

(57) Abstract:

PURPOSE: A microorganism SaO.4-23 (KFCC-11139) producing 5-xanthylic acid(XMP) is provided which is a mutant strain of *Corynebacterium ammoniagenes* (KFCC 10743) having sodium azide resistance and reinforced electron transport system, thereby having superior productivity of 5-xanthylic acid than conventional strains.

CONSTITUTION: A microorganism SaO.4-23 (KFCC-11139) producing 5-xanthylic acid(XMP) is obtained by treating *Corynebacterium ammoniagenes* (KFCC 10743) with mutagens such as, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(NTG) or UV rays, to have sodium azide resistance and reinforced electron transport system. Therefore, it has improved productivity of 5-xanthylic acid. 5-xanthylic acid is an intermediate of biosynthesis of purine nucleotide and used as a source in manufacturing 5-guanylic acid.

COPYRIGHT KIPO 2002

Legal Status

Date of final disposal of an application (20020531)

Patent registration number (1003440170000)

Date of registration (20020628)

(51) Int. Cl. 7
C12N 1/20

(11) 공개번호 특2001 - 0089980
(43) 공개일자 2001년10월17일

(21) 출원번호 10 - 2000 - 0018388
(22) 출원일자 2000년04월08일

(71) 출원인 제일제당주식회사
손 경 식
서울특별시 중구 남대문로5가 500번지

(72) 발명자 민선식
경기도의왕시포일동533 - 5번지동부새롬아파트101동2003호
심재익
경기도이천시중포동190 - 2번지선경아파트205동1604호
한종권
경기도수원시팔달구영통동969 - 1번지태영아파트932동1701호
오윤석
경기도용인시수지읍풍덕천리703번지동보아파트105동205호
이광호
경기도안양시동안구호계2동931번지삼성푸른마을아파트104동407호
박장희
서울특별시강서구가양동146 - 5번지
장재영
서울특별시강서구가양동146 - 5번지
곽영현
경기도이천시마장면덕평리산34번지
이재홍
서울특별시영등포구여의도동40 - 4번지화랑아파트3동102호

(74) 대리인 최승민
신영무
조인제

심사청구 : 있음

(54) 5' - 크산틸산을 생산하는 미생물

요약

- 본 발명은 5' - 크산틸산(XMP)을 생산하는 코리네박테리움 암모니아게네스(*Corynebacterium ammoniagenes*) KFC C 10743을 친주로 하여 자외선 조사, N-메틸 - N' - 니트로 - N - 니트로소구아니딘 (NTG) 등의 변이유발제로 통상적인 방법에 따라 처리하여 친주의 형질을 변형시켜, 아자이드염(Sodium azide)에 대한 내성을 갖게 하여 전자전달계를 강화함으로써 친주에 비해 5' - 크산틸산 생산능이 향상된 변이주에 관한 것이다.

색인어

5' - 크산틸산, 코리네박테리움 암모니아게네스, 변이유발제, 아자이드염

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 5' - 크산틸산(XMP)을 생산하는 미생물 자체에 관한 것이다. 보다 상세하게는 본 발명은 코리네박테리움 암모니아게네스(*Corynebacterium ammoniagenes*) KFCC 10743의 변이주로서 아자이드염(Sodium azide)에 대한 내성을 갖는 특수한 미생물로서 기존 균주에 비해 5' - 크산틸산의 생산능이 향상된 미생물에 관한 것이다.

5' - 크산틸산은 퓨린뉴클레오타이드(Purine nucleotide) 생합성 대사계의 중간생성물로 5' - 구아닐산(GMP)의 제조 원료로서 중요한 물질이다. 정미성이 강하고 상품적 가치가 높은 5' - 구아닐산의 제조방법으로서 현재 널리 이용되고 있는 방법은 미생물 발효법으로서, 5' - 크산틸산을 생산하고 이를 효소화학적으로 5' - 구아닐산으로 전환시키는 과정이 가장 경제적이어서 5' - 구아닐산의 수요만큼 5' - 크산틸산도 필요하다. 종래 5' - 크산틸산의 제조방법에는 화학합성법, 효모 중의 리보핵산을 분해하여 제조된 5' - 구아닐산을 탈아미노화하는 방법 또는 발효법을 들 수 있으며, 발효법에는 발효배지내 전구물질로 크산틴(Xanthine)을 첨가하는 방법, 미생물 변이주에 의한 제조법, 항생물질 첨가에 의한 제조법(일본특허 소42 - 1477, 소44 - 20390) 및 계면활성제 첨가에 의한 제조법(일본특허 소42 - 3825, 소42 - 3838) 등이 알려져 있다. 이 중에서도 미생물 변이주에 의한 5' - 크산틸산의 직접적인 발효제조방법이 공업적으로 유리하므로 본 발명자들은 기존의 코리네박테리움 암모니아게네스(KFCC 10743)가 보유하고 있는 형질을 개량하여 5' - 크산틴산이 최대량 생산될 수 있는 형질을 부여함으로써 5' - 크산틸산의 생산성이 월등히 증가한 변이주를 개발하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 본 발명자들은 미생물로 하여금 삼투압 내성을 갖게 함으로써, 고농도의 5' - 크산틸산과 당에 대한 내성을 증가시켜 5' - 크산틸산을 다량 생산케 하였다. 즉, 세포박의 고농도 당이나 5' - 크산틸산에 대한 내성을 높이기 위하여 삼투압 내성을 강화하는 아자이드염에 대한 내성을 갖게 함으로써 코리네박테리움 암모니아게네스 KFCC 10743에 새로운 형질을 부여하여 종래의 균주가 보유하고 있는 5' - 크산틸산의 생산성을 크게 향상시킨 변이주를 개발하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 구성 및 작용

본 발명에 따른 5' - 크산틸산을 생산하는 미생물 SaO.4 - 23는, 코리네박테리움 암모니아게네스(*Corynebacterium ammoniagenes*) KFCC 10743을 친주로 하여 자외선 조사, N - 메틸 - N' - 니트로 - N - 니트로소구아니딘(NTG) 등의 변이유발제로 통상적인 방법에 따라 처리한 후 아자이드염이 농도별로 첨가된 (주3) 배지에서 생육할 수 있는 변이주들 중에서 선별된 것이다. 이때 실험에 사용된 배지 중의 아자이드염 농도는 500mg/l 까지 사용하였으며, 아자이드염

• 농도 300mg/l 에서 생육하며, 5' - 크산틸산 농도가 향상된 균주를 선별하여, 이 균주를 SaO.4 - 23로 명명하여 한국종균협회에 기탁하였다(수탁번호 KFCC 139).

(주1) 영양배지 : 포도당 20g/l , 펩톤 10g/l , 효모엑기스 10g/l , 염화나트륨 2.5g/l , 우레아 3g/l , 아데닌 150mg/l , 구아닌 150mg/l , pH 7.2

(주2) 최소배지 : 포도당 20g/l , 인산제1칼륨 1g/l , 인산제2칼륨 1g/l , 우레아 2g/l , 황산암모늄 3g/l , 황산마그네슘 1g/l , 염화칼슘 100mg/l , 황산철 20mg/l , 황산망간 10mg/l , 황산아연 10mg/l , 비오틴 30μg/l , 티아민산염 0.1mg/l , 황산구리 0.8mg/l , 아데닌 20mg/l , 구아닌 20mg/l , pH 7.2

(주3) 아자이드염 첨가배지 : (주2) 최소배지에 아자이드염 100 내지 500mg/l 을 첨가한 배지

본 발명에서 분리한 신규의 변이주 SA04 - 23의 생화학적 특성은 표 1의 기재와 같다.

[표 1]

아자이드염에 대한 내성 비교

		아자이드염 농도(g/l)						
		0	0.1	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
균주	KFCC 10743	+++	+++	+	+	-	-	-
	SaO.4 - 23	+++	+++	+++	++	+	-	-
30℃에서 5일 배양 + ; 생육, - ; 생육치 못함								

상기 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 미생물 SaO.4 - 23은 300mg/l 농도의 아자이드염 첨가배지에서도 생육가능한 균주임을 알 수 있다.

실시예 1

사용균주 ; 본 발명의 미생물 SaO.4 - 23, KFCC 10743

종배지 ; 포도당 30g/l , 펩톤 15g/l , 효모엑기스 15g/l , 염화나트륨 2.5g/l , 우레아 3g/l , 아데닌 150mg/l , 구아닌 150mg/l , pH 7.2

발효배지 ; (1) 본배지 ; 포도당 60g/l , 황산마그네슘 10g/l , 황산철 20mg/l , 황산아연 10mg/l , 황산망간 10mg/l , 아데닌 30mg/l , 구아닌 30mg/l , 비오틴 100μg/l , 황산구리 1mg/l , 티아민염산염 5mg/l , 염화칼슘 10mg/l , pH 7.2

(2) 별살배지 ; 인산제1칼륨 10g/l , 인산제2칼륨 10g/l , 우레아 7g/l , 황산암모늄 5g/l

발효방법 ; 상기 종배지 5ml을 지름 18mm 시험관에 분주하고, 상법에 따라 가압, 살균한 후, 사용균주를 접종하고 150 rpm으로 30℃에서 20 내지 28시간 진탕 배양하여 종배양액으로 사용하였다. 발효배지 중 본배지와 별살배지를 각각 상법에 따라 살균하여 미리 가압 살균한 250ml용량의 진탕용 삼각플라스크에 20ml과 7ml씩 분주하고 종배양액 3ml을 식균한 다음 60 내지 70시간 배양하였다. 회전수는 170rpm, 온도 30℃로 조절하였다. 배양 완료 후, 5' - 크산틸산의 배지내 축적량은 기존 균주 KFCC 10743이 20.0g/l 이며, 본 발명에 따른 변이주 SaO.4 - 23균주는 14증가된 22.8g/l 이었다(5' - 크산틸산의 축적농도는 5' - 크산틸산나트륨 · 7H₂O로 표시하였다).

상기한 바와 같이, 본 발명에 따른 변이주 SaO.4 - 23은 5' - 크산틸산의 생산에 있어서 종래의 균주인 KFCC 10743에 비하여 14정도의 증가된 생산성을 나타냄을 확인할 수 있었다.

발명의 효과

따라서, 본 발명에 의하면 5' - 크산틴산의 생산성의 증가가 기대되는 미생물을 제공 하는 효과가 있다.

이상에서 본 발명은 기재된 구체예에 대해서만 상세히 설명되었지만 본 발명의 기술사상 범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속함은 당연한 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

코리네박테리움 암모니아게네스의 변이주로서 5' - 크산틴산을 생산하는 미생물 SaO.4 - 23(한국종균협회 수탁번호 K FCC - 11139).

청구항 2.

제 1 항에 있어서,

아자이드염 농도 300mg/l 에서 생육하는 미생물 SaO.4 - 23.